Mekanisme Regenerasi Hati secara Endogen pada Fibrosis Hati

The Endogenous Regeneration Mechanism of Liver Fibrosis

Fathiyah Safithri[1]

[1] Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. Jl. Bendungan Sutami 188A (Kampus II)

Abstrak

Hati merupakan organ unik yang mempunyai kemampuan regenerasi yang luar biasa. Kemampuan regenerasi ini terjadi sepanjang usia manusia. Terapi fibrosis hati yang berkembang saat ini lebih banyak terfokus pada bagaimana mengobati sel/ jaringan yang sakit berdasarkan patogenesis dan melupakan potensi sel-sel sehat. Sel sehat ini masih mempunyai potensi untuk regenerasi dan memperbaiki daerah yang sakit. Bila kedua hal ini dapat dilakukan bersama-sama maka akan mempercepat proses regenerasi hati. Artikel ini akan mengeksplorasi kontribusi hepatosit, sel stelata, sel punca endogen, sel Kupfer, dan enzim proteolitik pada proses homeostasis dan perbaikan hati khususnya pada kondisi fibrosis.

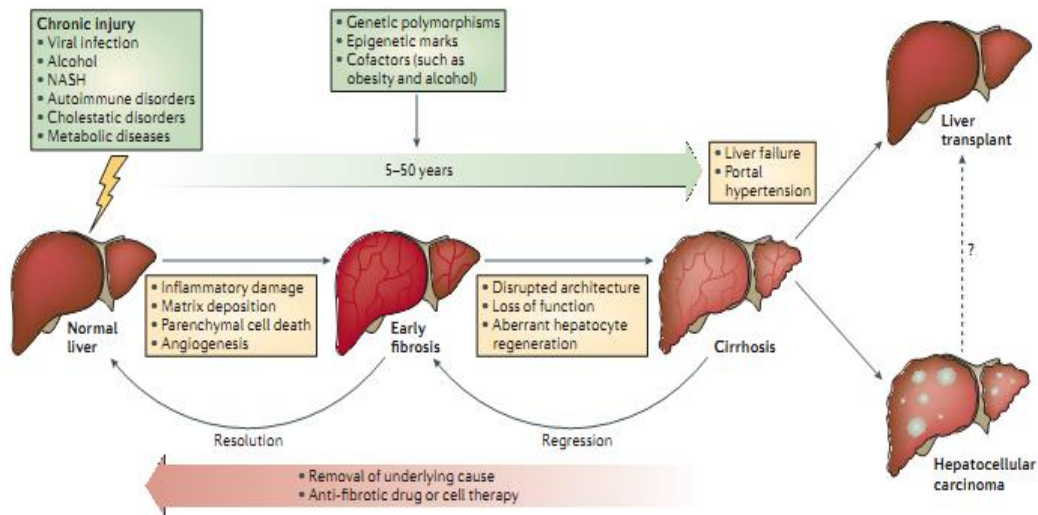
Abstract

The liver is a unique organ that has remarkable capacity for regeneration. This regenerative potential occurs throughout human life. Currenly treatment of liver fibrosis focuses more on how to treat diseased cells / tissues based on pathogenesis and forget the potential of healthy cell. These healthy cell still have capability to regenerate and repair the affected areas. If both things are done done together it will accelerate the process of liver regeneration. This article will explore the contributions of hepatocytes, stellate cells, endogenous stem cells, Kupfer cells, and proteolytic enzymes in homeostasis and liver repair processes, especially in conditions of fibrosis.

Perjalanan penyakit dan patogenesis fibrosis hati

Fibrosis hati merupakan konsekuensi patologis umum dari penyakit hati kronik yang ditandai dengan pembentukan jaringan parut pada parenkim hati secara progresif sebagai respon penyembuhan luka akibat jejas yang berlangsung kronik. Penyakit fibrosis hati merupakan *outcome* dari semua jejas hati kronik, dengan manifestasi berupa deposisi protein matrik ekstraseluler yang menghasilkan jaringan parut pada area jejas, hilangnya arsitektur jaringan dan kegagalan fungsi hati. Jejas kronik tersebut bisa disebabkan oleh infeksi virus Hepatitis B atau C, infeksi parasit, alkohol, obat dan toksin, obstruksi vena, kolestasis, otoimun ataupun penyakit metabolik seperti obesitas. Fibrosis yang terus berlanjut dapat berakhir sebagai sirosis (Henderson and Iredale, 2007).

Awal terjadi fibrosis hati biasanya tidak diketahui dan tidak terdeteksi. Morbiditas dan mortalitas terjadi setelah fibrosis berkembang menjadi sirosis, dan pada umumnya progresivitas sampai terjadi sirosis adalah setelah interval 15-20 tahun. Progresivitas ini terjadi lebih cepat pada beberapa keadaan, seperti episode hepatitis alkoholik akut berat, hepaititis subfulminan dan kolestasis fibrosis pada pasien dengan reinfeksi HCV setelah transplantasi hati (Bataller and Brenner, 2005; Wallace et al., 2008).

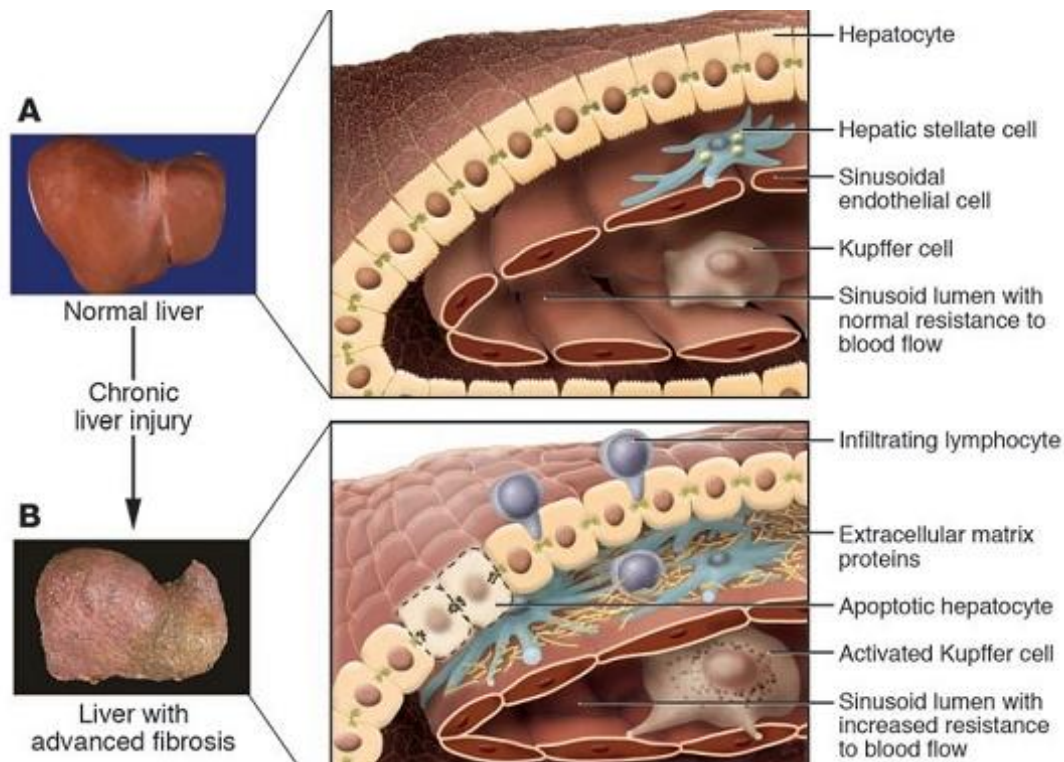
Patogenesis fibrosis diawali oleh kerusakan sel parenkim (nekrosis) akibat jejas kronik yang diikuti dengan inflamasi kronik. Inflamasi kronik tersebut mengaktivasi sel stelata hati (sel Ito) yang *quiscent* dan berubah menjadi miofibroblas yang aktif mensekresi molekul matriks, sitokrom dan kemokin. Pada fibrosis hati akibat etanol, akumulasi matriks ekstraselular dimulai di ruang perisinusoid (*spase of disse*) pada zona metabolik 3(*perivenous*) sebagai awal dari fibrosis perisentral. Fibrosis akibat etiologi yang lain, misalnya sirosis biliaris primer dan sirosis yang diinduksi HCV, fibrosis dimulai dari area periportal. Akumulasi matriks ekstraselular subendotel menyebabkan inkomplit membran basal (kapilarisasi) yang menghambat proses pertukaran dua arah antara hepatosit dan aliran darah sinusoidal, sehingga merusak fungsi bersihan (*clearance)* dan fungsi pengiriman biosintesis dari jaringan parenkim. Penyempitan lumen sinusoidal dan fibrosis perisinusoidal dianggap sebagai faktor yang berkontribusi terhadap resistensi hemodinamik intraparenkim (hipertensi portal). Fibrosis mengubah profil matriks, yaitu rasio chondroitin sulfat/heparan sulfat dan rasio kolagen tipe I/kolagen tipe III. Fibrosis juga mengubah struktur molekular dari beberapa molekul seperti hidroksilasi *collagen a-helix* dan derajat sulfatisasi dari *gycosaminoglycan-like heparan sulfat*, kondroitin dan dermatan sulfat (Gressner and Weiskirchen, 2006).

Gambar 1. Perjalanan Penyakit Hati Kronik (Pellicoro et al., 2014)

Pada jejas hati akut dengan deposisi matrik ekstraselulerr yang terbatas, sel parenkim akan melakukan regenerasi dan menggantikan sel yang nekrosis atau apoptosis. Pada jejas yang berlangsung kronik, terjadi akumulasi protein penyebab jaringan parut /fibrosis secara progresif dan regenerasi hati gagal sehingga hepatosit akan digantikan oleh matrik ekstraseluler (Bataller and Brenner, 2005). Distribusi jaringan fibrous tergantung penyebab jejas. Pada HCV dan kolestatik kronik, distribusi jaringan fibrous di sekitar traktus portal, sedang pada penyakit hati yang disebabkan alkohol, distribusi jaringan fibrous di area perisentral dan perisinusoid (Wallace et al., 2008)

Matriks ekstraselular dihasilkan oleh sel mesenkimal residen dan prekursor ekstrahepatik. Yang termasuk sel mesenkimal residen adalah sel stelata hati dan fibroblas portal. Sel stelata hati merupakan penghasil utama matriks ekstraseluler selama fibrogenesis. Pada keadaan normal, sel stelata hati bersifat *quiscent*, berada dalam *spase of Disse*, dan berfungsi sebagai tempat utama penyimpanan vitamin A. Pada jejas hati akut maupun kronik, sejumlah sinyal fibrogenik berupa autokrin maupun parakrin dapat menyebabkan sel stelata hati *quiscent* mengalami aktivasi dan mengalami transdifferensiasi menjadi miofibroblas.Sel stelata hati *quiscent* mengekspresikan penanda yang merupakan karakteristik adiposit (PPAR-γ, SREBP-1c dan leptin) dan neural, sementara sel stelata hati yang teraktivasi dan miofibroblas mengekspresikan penanda miogenik (α - aktin otot polos (α-*smooth muscle actin* / α-SMA), *c-myb*, dan *myocyte enhancer factor-2*) (Wallace et al., 2008).

Pada tahap awal terjadi jejas pada hati, kerusakan hepatosit atau kolangiosit melepaskan *Danger-Associated-Molecular-Pattern molecules* (DAMPs) sebagaimana RNA, DNA, atau alarmins (seperti HMBG-1) yang mengaktifkan sel-sel Kupffer yang terletak di sisi luminal endotel sinusoidal hati (LSEC). Berikutnya, sel Kupffer mensekresi sitokin proinflamasi seperti IL-1β dan TNF yang menambah kerusakan parenkim dengan menginduksi apoptosis. Selanjutnya, peningkatan kadar *Pathogen-Associated-Molecular-Pattern molecules* (PAMPs) di

sinusoid termasuk lipopolisakarida (LPS) merangsang sel Kupffer dan sel stelata hati melalui aktivasi *Toll-like-Receptor*-4 (TLR4) yang menyebabkan sensitisasi TGF-β dan sekresi CCL_2 oleh sel stelata hati. Peningkatan kadar CCL_2 memberikan efek kemotaksis pada monosit *'classical'* Ly-6 Chi dari sumsum tulang untuk bermigrasi ke hati, kemudian berkembang menjadi makrofag infiltratif Ly-6C + yang menunjukkan fenotip proinflamasi. Makrofag infiltaratif tersebut meningkatkan progresifitas jejas hati kronik dan fibrosis melalui proliferasi dan transdiferensiasi sel stelata hati melalui TGF-β / PDGF (Tacke and Zimmerman, 2014).

Aktivasi sel Kupffer juga bisa disebabkan oleh isi sel dan *reactive oxidative stress* (ROS) yang dilepaskan oleh sel yang mengalami nekrosis. Selain mensekresi mediator proinflamasi, sel Kupffer menstimulasi rekruitmen sel T dan netrofil. Lekosit direkrut menuju ke tempat jejas, memfagosit sel yang telah mati. Respon inflamasi semakin meningkat dengan keluarnya sitokin proinflamasi, seperti *tumor necrosis factor* (TNF), *interleukin*-6 (IL-6), dan IL-1β, beserta faktor pertumbuhan seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *connective tissue growth factor* (CTGF), *transforming growth factor-β* (TGF-β) dan IL-13. Sitokin proinflamasi dan faktor pertumbuhan tersebut selanjutnya mengaktivasi *resident* sel stelata hati dan menginduksi sel stelata hati mengalami transdifferensiasi menjadi miofibroblas fibrogenik. Hepatosit yang mengalami apoptosis juga menstimuli aksi fibrogenik sel stelata hati. Sel stelata hati yang teraktivasi melepaskan sitokin yang semakin meningkatkan jumlah sel stelata hati yang teraktivasi. TGF-β merupakan sitokin pro-fibrogenik utama yang menginduksi miofibroblas membentuk *a-smooth muscle actin* (α-SMA) dan kolagen fibrillar (*collagen type-1*), sehingga terbentuk matrik fibrotik. PDGF menginduksi proliferasi miofibroblas melalui mekanisme *extracellular signal-regulated kinase (ERK)-dependent and ERK-independent* dan melalui perubahan pH intraseluler (Pellicoro et al., 2014).

Gambar 2. Perubahan Arsitektur Hati pada Fibrosis hati
(Bataller and Brenner, 2005)

Pada fase awal sel stelata hati dan makrofag mampu mensekresi *matriks metalloproteinase (*MMP) dan aktivatornya, tetapi tidak mengekspresikan *tissue inhibitors of metalloproteinase* (TIMP), sehingga pembentukan kolagen fibrillar akan diikuti oleh degradasi ECM oleh MMP. Namun ketika sel stelata hati teraktivasi berulang-ulang dan terus menerus, ekspresi MMP turun dan mulai mengekspresikan TIMP sehingga aktivitas MMP mendegradasi matrik terhambat. Perubahan tersebut menyebabkan gangguan keseimbangan sekresi dan degradasi matrik yang berakibat terjadi akumulasi matrik. Sel stelata hati yang teraktivasi dan miofibroblas merupakan mediator akhir dalam proses fibrosis (Henderson and Iredale, 2007; Mallat and Lotersztajn, 2013).

Kompensasi komponen sel sehat dalam regenerasi hati (fisiogenesis - adaptif)

Sel memberikan respon yang bervariasi terhadap stres, mulai dari aktivasi jalur yang mendukung kelangsungan hidupnya sampai mengaktifkan program kematian sel. Respon awal sel dalam menghadapi stimuli stres diarahkan untuk membantu sel mempertahankan diri (adaptif) dan pulih dari penyebab kerusakan. Namun bila stimuli yang membahayakan tidak dapat diselesaikan, sel akan mengaktifkan jalur sinyal kematian sel. Kelangsungan hidup suatu sel tergantung pada kemampuan memberikan respon yang sesuai dengan stimuli stres dari lingkungan maupun dari intrasel (Fulda et al., 2010).

Regenerasi suatu organ / jaringan melibatkan seluruh komponen sel di dalamnya

untuk mempertahankan komposisi normal organ. Regenerasi tidak terjadi melalui eliminasi sel-sel yang rusak (*diseased cell*) namun diperantarai oleh peningkatan proliferasi dari populasi sel yang sehat (*healthy cell*) (Dreckhahn et al., 2008). Regenerasi dapat terjadi melalui tiga mekanisme yang dilakukan oleh sel kompeten yang berbeda. Hiperplasia kompensasi adalah regenerasi dengan cara proliferasi yang dilakukan oleh sel yang telah terdiferensiasi (misalnya hepatosit). Regenerasi melalui dediferensiasi oleh sel matur membentuk sel progenitor yang mampu membelah. Regenerasi oleh cadangan sel punca / sel progenitor di jaringan yang mampu diaktivasi. Ketiga mekanisme tersebut mempunyai tujuan yang sama yaitu memperbaiki jaringan dan fungsinya setelah jaringan mengalami jejas (Stocum, 2002).

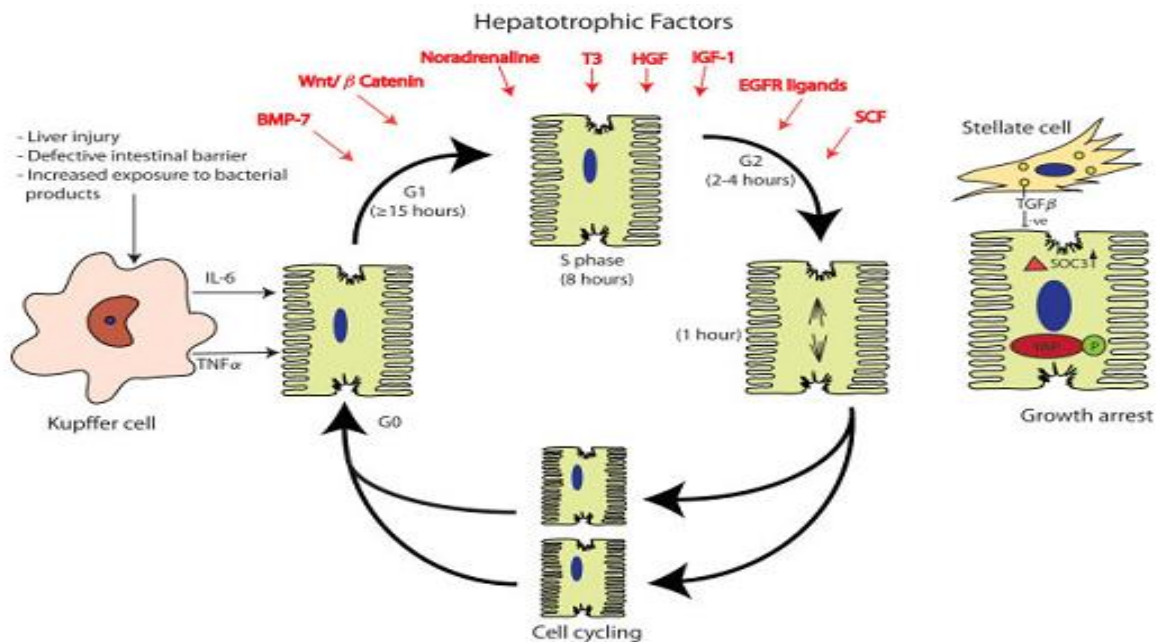
Hati dapat meregenerasi dirinya sendiri dengan cara meningkatkan kecepatan mitosis hepatosit dan meningkatkan diferensiasi sel punca menjadi hepatosit atau kolangiosit. Sel punca merupakan *cell lineage* utama untuk regenerasi hati. Terdapat lebih dari satu populasi sel punca di hati, yaitu sel punca residen, sel progenitor dan sel punca ekstrahepatik, yang dapat berdiferensiasi menjadi hepatosit dan sel epitel bilier (Esrefuglo, 2013).

Hati terdiri dari beberapa lobus yang tersusun dari sel parenkim dan sel non-parenkim. Sel parenkim berupa hepatosit dan kolangiosit; sedang sel non-parenkim berupa sel Kupffer (makrofag perisinusoid), sel stelata (sel Ito), sel stromal, sel pit (*liver-specific natural killer cells*) dan sel endotel. Sel parenkim dan sel non-parenkim mempunyai asal yang berbeda. Sel parenkim berasal dari endoderm, sedang sel non-parenkim dari mesoderm. Selama gastrulasi lapisan endoderm membentuk *primitive gut tube* yang terbagi menjadi *foregut*, *midgut* dan *hind gut. Foregut* berkembang menjadi divertikulum hepatik, yang selanjutnya akan berkembang menjadi hepar dan kandung empedu. Dalam perkembangannya menjadi hepar melibatkan beberapa jalur sinyaling, antara lain *transforming growth factor-β* (TGF-β), Wnt, *fibroblast growth factor* (FGF), Notch, dan *bone morphogenetic protein* (BMP). Lobus hati selanjutnya terbagi menjadi beberapa lobulus yang merupakan unit fungsional dari hati. Lobulus berbentuk poligonal dengan vena sentral sebagai pusatnya dan vena porta, arteriol dan duktus bilirubin ada di tepinya (Sadri et al, 2015).

Peran Hepatosit dalam Regenerasi Hati

Hepatosit merupakan komponen utama hati, mengisi 70% massa hati. Hepatosit bertanggung jawab dalam fungsi metabolisme dan detoksifikasi. Meskipun hepatosit merupakan *highly differentiated cells,* namun hepatosit mempunyai kemampuan proliferasi yang tidak terbatas. Dalam hati yang normal, hepatosit berada dalam keadaan *quiscent,* mempunyai umur hidup relatif panjang yaitu sekitar 5 bulan, dan mengalami *turn-over* yang sangat lambat (1-2 kali/tahun). Dengan masa hidup yang panjang hepatosit mampu melakukan minimal 68 kali pembelahan sel (Oertel and Shafritz, 2008).

Mekanisme regenerasi hati tergantung tipe jejas yang dialaminya. Setelah jejas akut, misalnya pada 2/3 hepatektomi parsial, proses regenerasi melibatkan hipertrofi dan proliferasi hepatosit matur (Fausto, 2004; Sadri et al., 2015). Selama hepatosit masih mempunyai kapasitas besar untuk melakukan regenerasi, sel

punca/progenitornya belum dilibatkan. Setelah 2/3 hepatektomi parsial, sebagian besar hepatosit secara cepat akan masuk dalam siklus sel dan mengalami mitosis secara simetris. Rata-rata kurang dari dua siklus pembelahan, massa sel hati dapat diperbaiki. Pada jejas hati yang berlangsung kronik (seperti infeksi hepatitis kronik), atau pada keadaan di mana replikasi /proliferasi hepatosit terhambat (misalnya pada *replicative senescene* atau steatohepatitis, sirosis hepatis), regenerasi terjadi melalui kompartemen sel kedua (sel progenitor) (Kallis et al, 2007).

Gambar 3. Faktor Hepatotropik yang mempengaruhi Proliferasi Hepatosit (Sadri, 2015)

Kemampuan regenerasi oleh hepatosit matur sangat tinggi, hal ini pernah ditunjukkan oleh penelitian pada tikus paska hepatektomi 2/3 bagian, 1/3 bagian hepar yang tersisa mampu tumbuh hingga massanya kembali normal selama sekitar 10 hari. Selama hati mengalami regenerasi, hepatosit seluruh parenkim hati terlibat dalam sintesa DNA, dan diperkirakan 70-90% hepatosit menjalani minimal satu kali pembelahan sel. Proliferasi hepatosit diawali dari area periportal hingga menyebar ke area sentrilobular. Setiap hepatosit mengalami rata-rata 1,4 kali putaran replikasi untuk mengembalikan ukuran normal hati. Namun kemampuan regenerasi sangat dipengaruhi usia. Pada tikus muda (usia 2-3bulan) semua hepatosit minimal 1 kali masuk dalam siklus sel, namun pada tikus tua (> 2 tahun) sebagian besar hepatosit tidak berespon (Oertel and Shafritz, 2008; Alison et al., 2009).

Jejas pada hati mengaktivasi jalur NF-κB dalam sel Kupffer sehingga terjadi peningkatan produksi dan sekresi sitokin hepatototropik yaitu IL-6, HGF, amphiregulin, SCF, IGF-1, T3, BMP-7, dan TNF-α. IL-6 melalui aktivasi *signal transducer and activator of transcription 3*(STAT3) menginisiasi sintesis DNA pada proses proliferasi hepatosit. Selain mempunyai kemampuan proliferasi tinggi, hepatosit matur juga mempunyai kemampuan plastisitas yang

besar. Plastisitas selular ini berhubungan dengan *Epithelial to Mesechymal Transition* (EMT). Hepatosit matur dapat melakukan transisi menjadi progenitor yang mirip sel oval (dediferensiasi) dan selanjutnya dapat berkembang menjadi hepatosit baru. Hepatosit matur juga mempunyai kemampuan transdiferensiasi menjadi sel epitel duktal bilier (Sadri et al, 2015).

HNF-4α merupakan salah satu anggota keluarga reseptor nuklear dari faktor transkripsi. HNF-4α berperan penting dalam regulasi diferensiasi hepatosit dan regulasi fungsi hati, antara lain protein serum. Reseptor nuklear HNF-4α merupakan regulator utama diferensiasi hepatosit selama perkembangan embrionik dan mempertahankan fenotip terdiferensiasi pada hepatosit dewasa (Bonzo et al., 2012). Pada hati dewasa normal, HNF-4α terekspresi pada nukleus hepatosit, namun tidak terekspresi pada sel kolangiosit. Diduga HNF-4α tersebut berperan dalam diferensiasi progenitor menjadi hepatosit matur dan memelihara fenotip hepatosit matur (Hakoda et al, 2003).

Peran Sel Stelata Hati dalam Regenerasi Hati

Sel stelata hati merupakan sel punca mesenkimal (*resident stem cell*) yang berada pada parenkim hati dan *spase of Disse*. Dalam kondisi tidak aktif (*quiscent*), sel tersebut bertugas menyimpan vitamin A (*retinoid*), namun ketika terjadi jejas mereka berdiferensiasi menjadi miofibroblas. Miofibroblas merupakan penghasil utama kolagen yang berperan dalam fibrogenesis di hati. Dalam proses regenerasi sel stelata melalui sekresi TGF-β dapat menghentikan regenerasi ketika hati sudah mencapai ukuran normal. Selain itu studi invitro dan invivo melaporkan bahwa sel stelata dapat berkembang menjadi *hepatocyte-like cell*, *progenitor-like cell* dan *epithelial cell* (Sadri et al, 2015; Kordes et al, 2014).

Penelitian terakhir menunjukkan terdapat *cross-talk* antara sel fibrogenik baik dengan hepatosit ataupun sel progenitor yang berhubungan dengan fibrogenesis dan regenerasi hati. Sel stelata hati yang teraktivasi dan fibroblas portal memberikan sinyal mitogenik dan antiapoptosis kepada hepatosit dan sel progenitor, antara lain berupa *hepatocyte growth factor* (HGF), IGF-1, neurothropin, IL-6 dan ligan Wnt (Mallat and Lotersztajn, 2013).

Jika jejas primer dapat dihentikan, fibrosis umumnya bersifat reversibel. Sebaliknya, sirosis bersifat irreversibel karena terjadi *cross-linking* kolagen oleh *tissue transglutaminase*, sehingga jaringan parut matriks ekstraseluler sulit didegradasi. Beberapa faktor yang menentukan reversibilitas suatu fibrosis antara lain jumlah total kolagen, durasi fibrosis, ada tidaknya enzim perusak matriks ekstraseluler (Albanis et al, 2006).

Jika jejas hati berhenti, fibrosis akan mengalami resolusi, di mana pada fase ini akan terjadi supresi *tissue-inhibitory matrix metalloproteinnase* (TIMP) hepatik yang selanjutnya akan diikuti oleh eliminasi miofibroblas hepatik melalui apoptosis, *senescence*, atau kembali menjadi *quiscent*. Ekspresi TIMP menurun sehingga terjadi peningkatan aktivitas MMP dan kolagen akan didegradasi (Bataller and Brenner, 2005; Mallat and Lotersztajn, 2013).

Apoptosis sel stelata hati dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, antara lain aktivasi reseptor Fas atau TNFR-1, *caspase* -8 dan -3, up-

regulasi protein pro-apoptotik (p53, Bax, *caspase 9*), dan penurunan *gen-survival* (Bcl-2) (Kissevela, 2008). NF-κB merupakan faktor transkripsi yang berperan dalam upregulasi gen antiapoptosis pada sel stelata hati yang teraktivasi. Hambatan sinyal NF-κB menginduksi apoptosis sel stelata hati yang teraktivasi. Degenerasi Sel stelata hati (*senescence*) berperan dalam resolusi fibrosis melalui hambatan proliferasi sel yang memproduksi ECM dan up regulasi ekspresi enzim yang mendegradasi matriks (MMP), mendukung degradasi ECM, dan mempercepat pembersihan (c*learance*) miofibroblas dari tempat jejas oleh sel NK. Sel stelata hati yang teraktivasi dapat mengalami deaktivasi /*reverse* sehingga kembali mengarah menjadi *quiscent* tetapi sel stelata hati *reverse* ini lebih sensitif terhadap stimuli fibrogenik (Mallat and Lotersztajn, 2013).

Fibrosis pada hati menyebabkan perubahan arsitektur vaskular sehingga terjadi lingkungan yang hipoksia. Keadaan hipoksia ini menjadi stimuli utama terjadinya angiogenesis. Sel stelata hati yang letaknya berdekatan dengan sel endotel menghasilkan beberapa faktor angiogenik, seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *angiopoientin*-1 dan -2, ligan *hedgehog*, PDGF-B dan reseptor-reseptornya. Faktor angiogenik tersebut meningkatkan sifat fibrogenik sel stelata hati dan berperan dalam angiogenesis melalui sinyal parakrin untuk sel endotel tetangganya (Mallat and Lotersztajn, 2013).

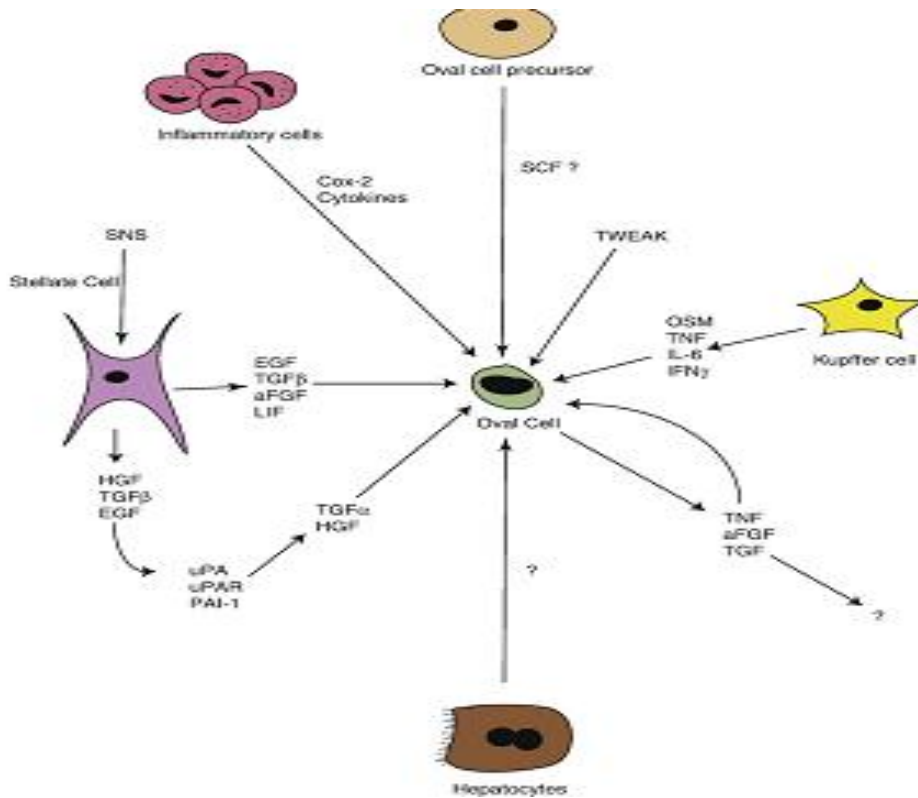
Peran sel punca endogen dalam regenerasi hati

Terdapat dua populasi sel punca / progenitor hati (SPPH) yaitu sel oval dan *small-hepatocyte progenitor cell* (SHPC), di mana keduanya dapat berdiferensiasi menjadi hepatosit ataupun kolangiosi untuk segera menggantikan sel yang rusak sekaligus mempertahankan hemostasis hati. Berdasarkan asalnya, SPPH ada yang intrahepatik / residen, ada pula yang ekstrahepatik, misalnya dari sumsum tulang dan sirkulasi, MSC, HSC, dan EPC. Berbeda dengan sel punca residen pada organ lain yang berfungsi untuk mengganti sel yang hilang setiap hari, SPPH bersifat fakultatif, pada kondisi normal atau sehat justru tidak dibutuhkan, SPPH baru akan teraktivasi ketika proliferasi hepatosit matur terhambat atau pada kondisi kerusakan hati yang berat (Liu et al, 2016).

a.Sel progenitor hati (sel oval)

Sel progenitor hati (sel oval) mampu berdiferensiasi menjadi hepatosit dan sel duktus bilier. Setelah teraktivasi, sel progenitor di zona portal bereplikasi dan terlihat sebagai sekumpulan sel progenitor dengan diferensiasi tahap menengah. Diduga sel ini kemudian bermigrasi menuju vena sentral dalam lobulus hati. Penelitian Kuwahara dkk. menunjukkan kemungkinan terdapat empat *niches* sel punca yang potensial, yaitu di kanal Hering, saluran empedu intralobular, sel mononuklear periduktal dan hepatosit peribilier (Fausto and Campbell, 2003; Riehle et al., 2011).

Aktivasi sel oval dapat disebabkan oleh sinyal langsung dari hepatosit yang rusak, sel Kupffer, sel stelata hati, sel punca hematopoietik, ataupun sel punca mesenkimal. Sel inflamasi dan sel endotel juga berperan dalam aktivasi sel oval. Sekresi TNF-α, IFN-σ, IL-6, dan *oncostatin* M (OSM) oleh sel Kupffer dapat menginduksi aktivasi dan proliferasi sel oval

(Erker and Grompe, 2008). Selanjutnya sel oval berrdiferensiasi menjadi hepatoblas dengan melibatkan beberapa sitokin, faktor pertumbuhan dan sinyaling, antara lain OSM , *leukemia inhibitory factor* (LIF), HGF, EGF, dan Wnt (Kang et al, 2012).

Gambar 4. Aktivasi Sel Oval (Erker and Grompe, 2008)

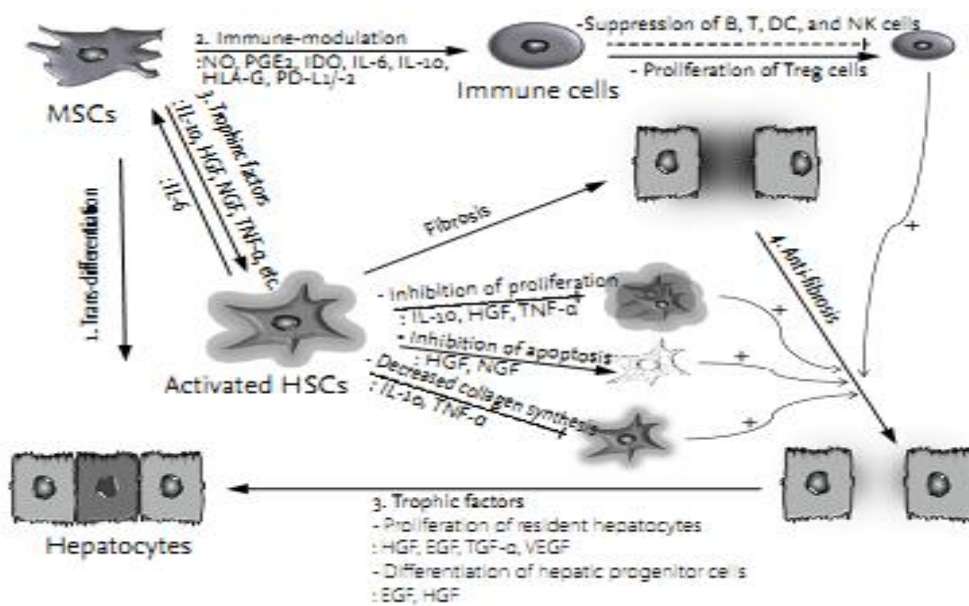
b. Sel punca hematopoietik (HSC) dari sumsum tulang.

Kontribusi HSC dari sumsum tulang dalam regenerasi hepatosit sangat kecil, yaitu pada frekuensi 10^{-4}– 10^{-6}. Mekanisme regenerasi hepatosit oleh HSC mencakup transdiferensiasi dan fusi antara hepatosit dan HSC. Diduga transdiferensiasi melibatkan aktivitas transkripsi banyak gen secara simultan untuk mengubah secara langsung fenotip HSC ke dalam hepatosit. Sebaliknya, fusi antara hepatosit dan HSC menghasilkan sel hibrida heterokariotik yang awalnya mengandung unsur-unsur genetik dan organel dari kedua jenis sel. Selanjutnya, inti sel HSC yang terkandung dalam sel hybrid heterokariotik memprogram untuk downregulasi gen hematopoietik dan upregulasi gen hepatosit. (Thorgeirsson and Grisham, 2006).

HSC residen di hati atau dalam bentuk turunan monosit-makrofag (sel non- parenkim) menghasilkan sitokin dan faktor pertumbuhan yang mendukung proliferasi dan diferensiasi. HSC selain melakukan transdiferensiasi menjadi hepatoblas, diduga dapat melakukan trandiferensiasi menjadi sel progenitor hati (sel oval), antara lain karena sel oval memiliki marker

hematopoietik (CD34, c-kit, CD45) (Pilat et al, 2013).

c. Sel punca mesenkimal (MSC)

Terdapat lima peran MSC dalam regenerasi hati seperti yang terlihat pada Gambar 2.5. Pertama, MSC dapat melakukan transdiferensiasi menjadi *hepatocyte-like cell;* kedua, MSC dapat melakukan fusi dengan hepatosit; ketiga, MSC menekan respon imun. Keempat, MSC mensekresi *trophic factor* berupa IL-10, HGF, NGF, TNF-α dan lain-lain untuk menekan aktivasi sel stelata hati dan meningkatkan proliferasi baik hepatosit matur maupun diferensiasi sel progenitor hati. Kelima, memberikan efek anti-fibrosis (Eom et al, 2015).

Gambar 5 Peran MSC pada regenerasi hati (Eom et al., 2015)

Regenerasi hepatosit oleh MSC dapat melalui transdiferensiasi atau fusi. *Niche* yang mendukung transdiferensiasi MSC menjadi *hepatocyte-like cell*, antara lain faktor pertumbuhan berupa FGF, HGF, OSM, EGF, dan BMP ; serta sinyaling intraseluler berupa *Wnt/β catenin* dan TGF-β. Sel fusi merupakan jalur alternatif plastisitas MSC dari sumsum tulang. Fusi antara MSC dan hepatosit telah dibuktikan dalam penelitian sebelumnya. Heterokarion menyatu, selanjutnya terjadi pengurangan ploidi untuk menjadi hepatosit normal. Regenerasi hepatosit melalui proses fusi terjadi pada frekuensi yang sangat rendah (Ye et al., 2015; Liu et al., 2012). Selain berdiferensiasi menjadi hepatosit, MSC juga dapat berdiferensiasi menjadi endotel (Eom et al., 2015).

Penelitian terdahulu membuktikan secara in vitro, MSC mempunyai potensi besar untuk memodulasi respon imun dan mengubah progresifitas penyakit (Ma, 2014). MSC dapat mensekresi faktor terlarut (*soluble factors*) seperti *nitric oxide, prostaglandin* E2 (PGE2), *indoleamine 2,3-dioxy-genase* (IDO), IL-6, IL-10, dan HLA-G.

Faktor terlarut tersebut meregulasi proliferasi dan fungsi berbagai sel imun (Eom et al., 2015).

Efek parakrin MSC terjadi setelah MSC memasuki lingkungan mikro (*niche*) area jejas. Beberapa sitokin TNF-α, IL-1β , IFN-γ, toksin dari agen penyebab infeksi dan hipoksia menstimuli MSC melepaskan berbagai faktor pertumbuhan seperti *epidermal growth factor* (EGF), *fibroblast growth factor* (FGF), *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor-β* (TGF-β), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *hepatocyte growth factor* (HGF), *insulin growth factor-1* (IGF-1), *angiopoietin-1* (Ang-1), *keratinocyte growth factor* (KGF) dan *stromal cell-derived factor-1* (SDF-1). Faktor pertumbuhan tersebut membantu perkembangan fibroblas, sel endotel, dan sel progenitor jaringan untuk regenerasi jaringan melalui peningkatan angiogenesis, hambatan transmigrasi lekosit, dan membantu perkembangan sel progenitor atau diferensiasi sel punca (Chen, 2008). MSC juga menghasilkan beberapa kemokin yang berfungsi memicu regenerasi jaringan seperti *stem cell factor* (SCF), *macrophage colony-stimulating factor* (M-CSF), SDF-1, *leukemia inhibitory factor* (LIF), dan *Angiopoietin*-1(Shi et al, 2007, Ma et al., 2014).

Setelah berulang kali mengalami proses jejas dan repair selama fibrogenesis, akan terjadi *replicative senescence* pada hepatosit. Faktor tropik yang disekresi MSC antara lain SDF-1, HGF, IGF-1 dan VEGF dapat meningkatkan kelangsungan hidup hepatosit melalui efek anti-apoptosis. HGF, EGF dan *nerve growth factor* (NGF) merupakan mitogen kuat yang berhubungan dengan proliferasi hepatosit, sedang VEGF berperan dalam meningkatkan angiogenesis (Eom et al., 2015).

MSC memberikan efek antifibrosis melalui mekanisme menghambat proliferasi sel stelata hati dan menurunkan sintesis kolagen yaitu melalui sekresi IL-10, TNF-α, TGF-β3 dan HGF *;* dan sekaligus menginduksi apoptosis sel stelata melalui sekresi NGF dan HGF. Hambatan MSC terhadap proliferasi sel stelata juga melalui aktivasi jalur *Notch* (Eom et al, 2015). MSC mampu meregulasi proses fibrogenesis yaitu dengan menghambat TIMP, sehingga mengaktivasi *matrix metalloproteinase* (MMP) dan selanjutnya terjadi degradasi matriks ekstraseluler (Dai et al, 2009). MSC meningkatkan ekspresi MMP-13 dan menurunkan ekspresi kolagen tipe-1 yang mendukung proses resolusi fibrosis (Rabani et al, 2010).

Di antara dua sel punca ekstrahepatik, HSC dan MSC, mempunyai potensi yang berbeda dalam regenerasi hati. MSC lebih potensial dibandingkan HSC dalam kemampuan homing ke area jejas, induksi proliferasi hepatosit, modulasi inflamasi dan hambatan aktivasi sel stelata hati. MSC mensekresi faktor pertumbuhan NGF selain HGF dan VEGF, sedangkan HSC hanya mensekresi HGF dan VEGF (Li et al, 2013).

d. Sel progenitor endothelial (EPC)

EPC berasal dari sumsum tulang berperan dalam regenerasi hati. EPC mempunyai kemampuan proliferasi yang tinggi, migrasi ke daerah jejas dan membantu perbaikan atau pembentukan pembuluh darah baru. Proses neovaskularisasi pada jaringan iskemia dan re-endotelialisasi vaskular di area jejas terjadi melalui diferensiasi EPC menjadi sel endotel sinusoid (Liu et al, 2009).

Selain memperbaiki vaskularisai, EPC juga berperan dalan regresi fibrosis. EPC mensekresi faktor parakrin, yaitu MMP-2, MMP-9, dan MMP-13 serta menurunkan ekspresi TIMP sehingga mengurangi fibrosis. EPC melalui sekresi HGF, VEGF dan TGF-α menghambat aktivasi miofibroblas, proliferasi sel stelata hati, sekresi TFG-β1 dan pembentukan kolagen. EPC juga mensekresi faktor pertumbuhan hepatotropik seperti HGF, EGF untuk proliferasi hepatosit (Liu et al, 2009)

Peran Sel Kupffer dalam Regenerasi Hati

Secara luas makrofag di hati dapat berupa sel Kupffer residen atau *monosit- derived macrophage*. Sel Kupffer merupakan populasi makrofag residen terbesar di dalam tubuh. Makrofag residen hepatik sudah tersedia sejak sebelum kelahiran dan dipertahankan sampai dewasa melalui kemampuan *self-renewal* dan umur panjang, tanpa kontribusi dari *pool* monosit. Sel Kupffer berada pada sinusoid hepatik, memiliki peran homeostasis, melindungi *host* dari antigen atau bakteri patogen yang masuk lewat saluran cerna dan mampu merangsang respon imun immunogenik dan tolerogenik. Sel Kupffer berasal dari monosit di sirkulasi yang bermigrasi ke hati dan transformasi menjadi makrofag jaringan. *Monosit-derived macrophage* ada dalam jumlah yang kecil pada zona perivaskuler. Saat jejas, terjadi perubahan populasi makrofag. Sel Kupffer residen berperan dalam respon awal terhadap jejas, mengeluarkan sitokin dan kemokin pro-inflamasi, seperti CCL2 dan CCL5. Selama inflamasi dan fibrogenesis, jumlah sel Kupffer mengalami penurunan, sebaliknya *monocyte-derived macrophage* jumlahnya meningkat signifikan. Studi dengan tikus model fibrosis hati yang diinduksi CCl_4 membuktikan bahwa makrofag pro-fibrogenik berasal dari *monocyte-derived macrophage* (Pellicoro et al, 2014).

Sel Kupffer berada pada seluruh jaringan hati dengan kepadatan, karakteristik dan fungsi fisiologis yang berbeda-beda di setiap area. Sel Kupffer ukuran besar banyak terdapat di area periportal, dengan kemampuan fagositosis dan aktivitas enzim lisosom lebih tinggi dibandingkan sel Kupffer ukuran kecil yang terdapat di perivena dan zona tengah. Sel Kupffer besar memproduksi TNF-α, PGE-2, dan IL-1, sedangkan sel Kupffer kecil memproduksi NO (Bilzer et al, 2006).

Makrofag di hati mempunyai dua peran dalam fibrosis. Deplesi makrofag selama jejas mengurangi fibrosis yang terbentuk, tetapi deplesi selama fase penyembuhan menyebabkan fibrosis yang menetap (Duffield et al, 2005). Pada awal terjadi fibrosis, sel monosit dari sumsum tulang direkrut menuju tempat jejas untuk memfasilitasi inflamasi. Monosit, makrofag ataupun sel Kupffer merupakan sumber utama TGF-β1 yaitu sitokin fibrogenik utama yang secara langsung mengaktivasi miofibroblas hati. Aktivasi makrofag dan pelepasan TGF-β1 tersebut terjadi melalui sinyaling *Toll-like Receptor*-4 (TLR-4). Pada fase resolusi, monosit/makrofag direkrut untuk memfasilitasi resorbsi skar fibrous dan membersihkan sel apoptosis (Di Bonzo et al, 2008; Kissevela and Brenner, 2012). Jadi, terdapat dua populasi makrofag yang berbeda secara fungsional direkrut menuju area jejas di hati. Selama fase jejas, makrofag pro-fibrinogenik direkrut menuju area fibrosis untuk mendukung proliferasi miofibroblas dan apoptosis. Sebaliknya, pada fase penyembuhan,

makrofag memperantarai degradasi matrik dan apoptosis sel stelata hati (Duffield et al., 2005). Degradasi matrik dilakukan melalui pelepasan enzim degradasi kolagen, seperti kolagenase dan matrik metalloproteinase. Peran sel Kupffer dalam regenerasi hati juga melalui sekresi ligan Wnt dan aktivasi sinyaling Wnt/β-*catenin* (Sadri et al, 2015).

Aktivasi sel Kupffer diperlukan dalam regenerasi hati. Aktivasi sel Kupffer dipicu oleh interaksi lekosit dengan reseptor CD11 pada permukaan sel Kupffer dan diperantarai oleh molekul adhesi intraseluler, ICAM-1. Selain itu, aktivasi komplemen C3a dan C5a juga berperan dalam regenerasi hati karena aktivasi komplemen tersebut lewat GPCR sel Kupffer dapat menginduksi translokasi NF-κB dan pelepasan sitokin IL-6 dan TNF-α. Sitokin TNF-α dan IL-6 selanjutnya akan berinteraksi dengan reseptor TNF-α dan reseptor IL-6 pada hepatosit. Interaksi sitokin dengan reseptornya tersebut akan menginisiasi proliferasi hepatosit, melalui translokasi NF-kB dan STAT3 (Bilzer et al, 2006).

Makrofag diklasifikasikan dalam dua polarisasi yaitu, makrofag M1 (klasik, berhubungan dengan fase pertama inflamasi akut) dan makrofag M2 (alternatif, fase lanjut). Aktivasi makrofag M1 menyebabkan sekresi NO dan sitokin pro-inflamasi, antara lain IL-1β , IL-6, TNF-α , and IFN-γ, dan umumnya berhubungan dengan inflamasi, resistensi tumor atau reaksi penolakan pada transplantasi organ. Aktivasi makrofag M2 bersifat meregulasi inflamasi melalui sekresi IL-10, TGF-β, dan VEGF serta berperan dalam menurunkan inflamasi, remodelling jaringan, regenerasi jaringan, angiogenesis, dan degradasi matriks ekstraseluler (Mantovani et al., 2013).

Peran enzim proteinase dalam regenerasi hati

Degradasi matriks ekstraseluler dapat terjadi melalui tiga tahap yaitu pertama, perusakan matriks berupa kolagen fibrilar maupun non-fibrilar dan elastin, oleh protease ekstraseluler. Kedua, fibril dikenali oleh reseptor membran dan ketiga, fragmen matriks akan di uptake ke dalam sel dan dicerna oleh lisosom. Beberapa enzim proteinase yang terlibat dalam degradasi matriks adalah *matrix metalloproteinnase* (MMP), *cysteine proteinase* (cathepsin B dan L) dan *serine proteinase* (plasmin dan plasminogen activator). Di antara enzim-enzim tersebut, MMP merupakan enzim proteolitik yang utama. MMP dihasilkan oleh jaringan ikat dan sel inflamasi. MMP dikelompokkan berdasarkan substratnya yaitu *colagenase* (MMP-1, MMP-8 dan MMP-13) yang berperan sentral dalam degradasi jaringan fibrous, terutama untuk kolagen tipe-1; *gelatinase* (MMP-2 dan MMP-9), *metaloelastase* (MMP-12) dan *stromelysin* (MMP-3). Sel Kupffer (makrofag endogen) mampu mendegradasi kompleks matriks ekstraseluler melalui produksi *gelatinase* (*matriks metaloproteinase*-2/MMP-2, MP-9), *metalloelastas*e (MMP-12), *matrilysin* (MMP-7), dan *kolagenase* (MMP-1 dan MMP-13). MMP-13 mempunyai aktivitas proteinase yang kuat, mampu mendegradasi berbagai variasi kompleks matriks ekstraseluler dan menduduki posisi sentral pada aktivasi kaskade MMP. Selain sel Kupffer, MMP-13 juga dihasilkan oleh sel stelata hati dan sel punca (Thomas et al, 2011)

Tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) merupakan sekelompok protein terlarut yang

dapat mengikat MMP yang aktif. Hambatan pada TIMP dapat meningkatkan degradasi ECM. Enzim *lysyl oxydase* mengkatalisis oksidasi amin utama seperti residu lisin menjadi aldehid. Aldehid kemudian bereaksi dengan aldehid atau amin yang lain untuk membentuk *cross-link* dengan kolagen atau elastin. Kolagen dan elastin yang tersusun bersilangan dapat menghalangi enzim proteolitik mencapai tempat ikatannya. Hambatan pada aktivitas enzim *lysyl oxydase* dapat menyebabkan *reverse* fibrosis (Glasser et al, 2016).

SIMPULAN

Cedera kronik pada hati dapat menyebabkan terbentuk jaringan fibrosis dan proses regenerasi terganggu. Hati dengan semua komponennya mempunyai potensi regeneratif yang luar biasa. Kapabilitas regeneratif sel-sel di hati tersebut dapat ditingkatkan. Pemahaman tentang mekanisme regenerasi hati yang dilakukan oleh sel sehat secara endogen memberikan harapan bahwa aktivasi sel sehat tersebut diharapkan dapat mengeliminasi jaringan fibrosis yang terbentuk dan menggantinya dengan sel-sel baru yang fungsional.

.

DAFTAR PUSTAKA

Albanis E, Friedman BL, Antifibrotic agents for liver disease, 2006, *American Journal of Transplantation* 6: 12–19

Alison MR, Islam S, Lim S. 2009, Stem cells in liver regeneration, fibrosis and cancer: the good, the bad and the ugly, *Journals of Pathology* 217: 282–298

Bataller R and Brenner DA, 2005, Liver fibrosis, *The Journal of Clinical Investigation* Number 2 Volume 115 :209–218

Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL, 2006, Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver International* 26: 1175–1186.

Bonzo AJ, Ferry CH, Matsubara T, Kim J, and Gonzalez FJ, 2012, Suppression of Hepatocyte Proliferation by Hepatocyte Nuclear Factor 4α in Adult Mice, *The Journal Of Biological Chemistry* Volume 287, No. 10, pp. 7345–7356

Dai L, Li HY, Guan L, Ritchie G, Zhou JX, 2009, The therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on hepatic cirrhosis, Stem Cell Research 2,16–25

Di Bonzo LV, Ferrero I, Cravanzola C, 2008, Human mesenchymal stem cells as a two-edged sword in hepatic regenerative medicine: engraftment and hepatocyte differentiation versus profibrogenic potential. *Gut* 57:223–31.

Drenckhahn J, Schwarz QP, Gray S, Laskowski A, Kiriazis H, Ming Z, Harvey RP, Du X, Thorburn DR, and Cox TC, 2008, Compensatory Growth of Healthy Cardiac Cells in the Presence of Diseased Cells Restores Tissue Homeostasis during Heart Development, Developmental Cell 15, 521–533

Duffield, J. S., Forbes, S. J., Constandinou, C. M. 2005, Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair. Journal of Clinical Invest. 115, 56–65

Eom YW, Shim KY, and Baik SK, 2015, Mesenchymal stem cell therapy for liver

fibrosis, *Korean Journal Internal Medicine* 30:580-589

Erker l, Grompe M, 2008, Review : Signaling networks in hepatic oval cell activation, *Stem Cell Research* 1,90–102

Esrefuglo M, 2013, Role of stem cells in repair of liver injury: Experimental and clinical benefit of transferred stem cells on liver failure*, World Journal Gastroenterology* 28; 19(40): 6757-6773

Fausto N, 2004, Liver Regeneration and Repair: Hepatocytes, Progenitor Cells, and Stem Cells, *Hepatology,* Vol. 39, No. 6, pp 1477-1487

Fausto N, Campbell JS, 2003, The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation, *Mechanisms of Development* 120 : 117–130Fulda S, Gorman AM, Hori O, and Samali A, 2010, Cellular Stress Responses: Cell Survival and Cell Death, International Journal of Cell Biology Volume 2010, Article ID 214074, pp 1-23

Glasser SW, Hagood JS, Wong S, Taype CA, Madala SK, and Hardie WD, 2016, *The American Journal of Pathology,* Vol. 186, No. 5

Gressner AM, Weiskirchen R, 2006, Modern Pathogenetic Concepts Of Liver Fibrosis Suggest Stellate Cells And Tgf-B As Major Players And Therapeutic Targets, *Journal of. Cellular and Molecular Medicine* Vol 10, No 1,pp. 76-99

Hakoda T, Yamamoto K, Terada R, Okano N, Shimada N, Suzuki T, Mizuno M, and Shirator Y, 2003, A Crucial Role of Hepatocyte Nuclear Factor-4 Expression in the Differentiation of Human Ductular Hepatocytes, *Laboratory Investigation* Vol. 83, No. 10, p. 1395-1402

Henderson NC and Iredale JP, 2007, Liver fibrosis: cellular mechanisms of progression and resolution, *Clinical Science* 112, 265–280

Kallis YN, Alison MR, Forbe SJ, 2007, Bone Marrow Stem Cells and Liver Disease, *Gut* 56:716–724

Kang L, Mars MM and Michalopoulos GK, 2012, Signals and Cells Involved in Regulating Liver Regeneration, *Cells,* I, 1261-1292

Kissevela T, Brenner DA, 2012, The phenotypic fate and functional role for bone marrow-derived stem cells in liver fibrosis, *Journal of Hepatology* volume. 56 p. 965–972

Kordes C, Sawitza I, Gotze S, Herebian D,and HaussingerDH, 2014, Hepatic stellate cells contribute to progenitor cells and liver regeneration, *Journal of Clinical Investigation*,vol.124,no.12, pp. 5503–5515.

Li Q, Zhou X, Shi Y, Li J, Zheng L, Cui L, 2013, In vivo tracking and comparison of the therapeutic effects of MSCs and HSCs for liver injury. *PLoS One* 8:e62363

Liu F, Liu Z, Wu n, Cong X, Fei R, 2009, Transplanted Endothelial Progenitor Cells Ameliorate Carbon Tetrachloride–Induced Liver Cirrhosis in Rats, *Liver Transplantation* 15:1092-1100

Liu L, Yannam GR, Nishikawa T, Yamamoto T, Basma H, Ito R, Nagaya M, Stolz DB, Duan F, Kaestner KH, Vodovotz Y, Gutierrez, Fox IJ, 2012, The Microenvironment in Hepatocyte Regeneration and Function in Rats With Advanced Cirrhosis, *Hepatology* 55:1529-1539

Liu W, Song F, Ren L, Guo W, Wang T, Feng Y, Tang L, Li K, 2016, Journal of Cellular and Molecular Medicine, Vol 19, No 3, pp. 511-520

Ma S, Xie N, Li W, Yuan B, Shi Y, dan Wang Y, 2014, Immunobiology of mesenchymal stem cells, *Cell Death and Differentiation* 21, 216–225

Mallat A and Lotersztajn S, 2013, Cellular Mechanisms of Tissue Fibrosis. 5. Novel insights into liver fibrosis, *American Journal of Physiology Cell* 305: C789–C799

Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, Sica A,and Locati M, 2013, Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling, *Journal of Pathology* 229: 176–185

Oertel M, Shafritz DA, 2008, Stem cells, cell transplantation and liver repopulation, *Biochemistry Biophysiology Acta*.February ; 1782(2): 61–74.

Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP and Fallowfield JA, 2014, Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ, *Nature review : Immunology* volume 14, pp 181-194

Pilat N, Unger L, and Berlakovich GA, 2013, Implication for Bone Marrow Derived Stem Cells in Hepatocyte Regeneration after Orthotopic Liver Transplantation, *International Journal of Hepatology*, Volume 2013, Article ID 310612, 1-7

Rabani V, Shahsavani M, Gharavi M, Piryaei A, Azhdari Z, Baharvand H, 2010, Mesenchymal stem cell infusion therapy in a carbon tetrachloride-induced liver fibrosis model affects matrix metalloproteinase expression. *Cell Biology Inernational* 34:601-605

Riehle KJ, Dan YY, Campbell JSand Fausto N, 2011, Review : New concepts in liver regeneration, Journal of Gastroenterology and Hepatology 26 Suppl. 1; 203–212

Sadri A, Jeschke MG, Amini-Nik S, 2015, Advances in Liver Regeneration: Revisiting Hepatic Stem/Progenitor Cells and Their Origin, *Journal of Stem Cell International*, Article ID 815192

Shi M, Li J, Liao L, Chen B, Li B, Chen L, 2007, Regulation of CXCR4 expression in human mesenchymal stem cells by cytokine treatment: role in homing efficiency in NOD/SCID mice. *Haematologica*;92:897-904

Stocum DL, 2002, Regenerative biology and medicine, Journal of Musculoskeletal Neuron Interaction 2(3):270-273

Tacke F, Zimmerman HW, 2014, Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis, *Journal of Hepatology* vol. 60:1090–1096

Thomas JA, Pope C, Wojtacha D, Robson AJ, Gordon-Walker TT, Hartland S, Ramachandran P, Deemter MV, Hume DA, Iredale JP, Forbes SJ , 2011, Macrophage Therapy for Murine Liver Fibrosis Recruits Host Effector Cells Improving Fibrosis, Regeneration, and Function, *Hepatology* 53:2003-2015

Thorgeirsson SS, Grisham JW, 2006, Hematopoietic Cells as Hepatocyte Stem Cells: A Critical Review of the Evidence, *Hepatology* 43:2-8

Wallace K, Burt AD, Wirght MC, 2008, Liver Fibrosis, *Biochemical Journal* 411: 1-8

Ye J, Su X, Stolz, 2015, Signaling pathways involved in the process of mesenchymal stem cells differentiating into hepatocytes, *Cell Proliferation*., 48, 157–165